

# Metody biotechnologiczne w nauce i produkcji kwiaciarskiej

Teresa Orlikowska<sup>1</sup>  
Marek Jerzy<sup>2</sup>

## 1. Wprowadzenie

Otwarcie polskiego rynku wymusza istotne zmiany we wszystkich sektorach produkcji rolniczej. Produkty wytworzone w Polsce muszą być konkurencyjne jakościowo i cenowo dla produktów wytworzonych za granicą. Dotyczy to także produkcji kwiaciarskiej, która w minionych latach była intratną gałęzią polskiego rolnictwa. Obecnie zalewają nas kwiaty z Europy Zachodniej. Poddanie się na tym polu to wypływ kapitału i utrata wielu miejsc pracy. W naszym interesie leży zatem rozszerzenie produkcji kwiaciarskiej i poprawienie jej konkurencyjności.

Bardzo wiele polskich gospodarstw jest zbyt małych obszarowo aby utrzymać się z produkcji rolniczej, ale mogłyby utrzymać się z produkcji roślin ozdobnych, których cena jednostkowa jest wyższa. Powinien nas zainspirować choćby przykład Holandii, która uczyniła z produkcji kwiaciarskiej dochodowe i poważne źródło eksportu. Nauka powinna wspomóc producentów udostępnieniem nowych technologii uprawy, nowych, bardziej atrakcyjnych roślin i tańszych sposobów produkcji materiału nasadzeniowego wysokiej jakości. Jest to powód, aby do badań i produkcji kwiaciarskiej zaangażować metody biotechnologiczne. Pod uwagę należy brać rozmnażanie roślin w kulturach *in vitro*, wytwarzanie materiału matecznego wysokiej jakości i hodowlę nowych odmian.

## 2. Rozmnażanie roślin w kulturach *in vitro* (mikrorozmnażanie)

Rozmnażanie roślin na skalę handlową w kulturach *in vitro* wykorzystywane jest w reprodukcji roślin ozdobnych od dłuższego czasu i w odniesieniu do licznych roślin doniczkowych (przede wszystkim fikusów, paproci, syngonium, spatyfilum), storczyków oraz gerber. Jest to obecnie podstawowy spo-

<sup>1</sup>Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa, Skierniewice.

<sup>2</sup>Akademia Techniczno-Rolnicza, Bydgoszcz.



sób ich mnożenia. Na ogół brak jest technologii mikrorozmnażania roślin „trudniejszych” — drzew i krzewów ozdobnych, w tym roślin iglastych. Zaletami mnożenia *in vitro* są: szybkość i produktywność rozmnażania, lepsza jakość sadzonek, lepsze ich wyrównanie, niezależność od pory roku, niezajmowanie miejsca pod mateczniki w szklarni, duża dynamika wzrostu po przesadzeniu do warunków *ex vitro*, brak patogenicznych chorób (w tym wirusów) na sadzonkach, bardzo niski stopień skażenia środowiska. Mnożenie *in vitro* jest szczególnie korzystną metodą w odniesieniu do roślin rozmnażanych wegetatywnie, o niskiej zdolności do rozkrzewiania (mała wydajność sadzonek) i ukorzenia, roślin nowo wprowadzanych do uprawy (brak odpowiednio dużych mateczników), składników mieszańców (form męskosterylnych) w hodowli heterozyjnej i roślin o wysokiej wartości jednostkowej (krzewy, szczególnie iglaste). Ujemne strony mikrorozmnażania to zbyt duże zaangażowanie siły roboczej, trudność w zmechanizowaniu i zautomatyzowaniu, zbyt niski współczynnik rozmnażania niektórych genotypów i w związku z tym niska opłacalność produkcji mikrosadzonek.

Badania nad mikrorozmnażaniem powinny iść w kierunku obniżenia kosztów produkcji przez radykalną zmianę technologii na bardziej wydajne (mnożenie na pożywkach płynnych w bioreaktorach) oraz podwyższenie współczynnika rozmnażania (zarodki somatyczne i sztuczne nasiona). Pierwsze kroki uczyniono tu w opracowaniu sposobu zautomatyzowanej produkcji lilii (1), produkcji mieczyków i nerine w bioreaktorach (2) oraz w mnożeniu przez zarodki somatyczne poinsecji (3), frezji (4), pelargonii (5), cyklamenów (6) i innych roślin ozdobnych. Optymalizowanie klasycznej technologii mikrorozmnażania powinno skupiać się na ukorzeniu mikrosadzonek w warunkach niesterylnych, lub częściowo sterylnych, na opracowaniu bardziej skutecznych zasad aklimatyzacji (przy dożywianiu dwutlenkiem węgla i wykorzystaniu mikoryzy), zastosowaniu tańszych naczyń (folia polietylenowa zamiast szkła), wyprodukowaniu tańszego substytutu agaru, mechanizacji, automatyzacji i robotyzacji, itp. (7,8,9).

### 3. Wytwarzanie elity matecznej roślin mnożonych wegetatywnie

Jakość materiału nasadzeniowego ma znaczący wpływ na opłacalność produkcji. Powinien być on wolny od chorób i szkodników, mieć dużą dynamikę wzrostu oraz winien być jednolity genotypowo i fenotypowo. Zdrowotność jest szczególnie ważna w przypadku roślin mnożonych wegetatywnie, których tkanki kumulują patogeny i przekazują je potomstwu przez zakażone pąki, sadzonki, bulwy, kłącza i cebule. Wytwarzanie elity matecznej z przeznaczeniem do dalszej reprodukcji metodami ogrodniczymi lub bezpośrednio do produkcji finalnej obejmuje takie etapy jak:

- 1) wybór, na podstawie testowania, roślin wolnych od chorób i szkodników,
- 2) masowe rozmnażanie materiału zdrowego w warunkach uniemożliwiających reinfekcję, np. w kulturach *in vitro*,



- 3) przechowywanie materiału zdrowego w niskich i ultraniskich temperaturach (bank tkanek do wytwarzania elity matecznej),
- 4) identyfikacja genotypu na podstawie markerów biochemicznych.

Wybór metody wytwarzania elity matecznej zależy od gatunku, sposobu rozmnażania, systemu uprawy i tradycji ogrodniczej. Bardzo wysoka wydajność i łatwość technologiczna mikrorozmnażania gerbery wyeliminowała nie tylko pozostałe metody mnożenia, ale także prawie całkowicie zminimalizowała problem jakości materiału nasadzeniowego, w tym przenoszenia chorób wędnięcia, ponieważ tak produkowane sadzonki mają duży potencjał wzrostowy i są wolne od chorób i szkodników. Kultury *in vitro* są także podstawową metodą w reprodukcji cebul lili o wysokiej zdrowotności.

Różnorodność roślin kwiatarskich i atakujących je wirusów wymaga używania zróżnicowanych sposobów testowania. W zależności od rośliny i wirusa mogą to być testy biologiczne, serologiczne, elektromikroskopowe bądź oparte na identyfikacji kwasów nukleinowych wirusa (10). Narcyzy są porażane przez kilkanaście wirusów, z których kilka ma znaczący, ujemny wpływ na jakość kwiatów i reprodukcję cebul (11). Zastosowanie odrębnych testów dla każdego wirusa byłoby zbyt kosztowne i czasochłonne. Należałoby zatem opracować, w tym i w podobnych przypadkach, metodę „testowania totalnego” na obecność RNA wirusowego, bez wnikania w identyfikację patogena. Można tu posłużyć się metodą elektroforetycznego wyodrębnienia RNA dwuniciowego — szczególnej postaci infekcyjnej tego typu wirusów (12). Technikę tę stosowano m.in. do wykrywania wirusów i organizmów wirusopodobnych w krzewach ozdobnych (13). Inną możliwość stwarza wykrywanie wirusów za pomocą przeciwciał monoklonalnych, specyficznych dla dwuniciowego RNA (14).

Jednym z powodów zmniejszenia się arealu uprawy narcyzów w Polsce jest mała produktywność cebul, co jest bezpośrednio związane z niemożnością zakupu zdrowych cebul do reprodukcji. W przypadku lili, tulipanów, goździków i chryzantem także jesteśmy uzależnieni od materiału importowanego. Zdrowotność importowanych do Polski cebul i sadzonek nie jest najlepsza. Wątpliwości polskich producentów co do jakości tego materiału nie mogą być niestety autorytatywnie wyjaśnione z powodu braku odpowiednich laboratoriów. Wzorem dla nas winny być przepisy australijskie, które są nastawione na ochronę przed rozprzestrzenianiem chorób i szkodników z importowanym materiałem roślinnym. Przepisy kwarantanny są tam surowo egzekwowane. Każdy wwożony materiał musi być obowiązkowo, odpłatnie testowany przez importera w autoryzowanym laboratorium (17).

Rośliny wolne od chorób można by rozmnażać w polskich laboratoriach *in vitro* pod warunkiem, że ktoś będzie specjalizował się w komercyjnym odwirusowaniu i testowaniu według opracowanych metod. W oparciu o technikę *in vitro* należałoby stworzyć bank zdrowych roślin. Raz uwolnione od wirusów rośliny można przechowywać w niskich lub ultraniskich temperaturach, w warunkach całkowicie chroniących przed reinfekcją i używać je do wytwarzania superelity (15). W przypadku mnożenia w kulturach *in vitro* szczegól-



nie, ale także w innych okolicznościach, istnieje potrzeba identyfikacji odmianowej na każdym etapie rozwoju rośliny. Możliwość taką daje analiza na podstawie markerów biochemicznych — białek, fenoli czy DNA. Odmiany tulipanów identyfikowano za pomocą markerów białkowych (18), gerber — polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP) (19), gerber, goździków i róż — przez analizę DNA satelitarnego (20).

Badania mające jako cel praktyczny produkcję materiału elitarnego wysokiej jakości powinny być przede wszystkim skoncentrowane na opracowywaniu metod odwirusowania i testów kontrolujących obecność wirusów w materiale roślinnym, identyfikacji genetycznej roślin oraz metod gromadzenia i przechowywania tkanek wolnych od wirusów. Dobrym przykładem opracowania teoretycznego i praktycznego tego typu może być propozycja wytwarzania materiału elitarnego dalii, która obejmuje uwalnianie od wirusów przez izolację merystemów, namnażanie w warunkach *in vitro*, testowanie obecności wirusów i bakterii oraz przechowywanie w warunkach *in vitro* zdrowych tkanek (16).

Połączone starania polskich producentów, eksporterów i importerów powinny doprowadzić do powstania autoryzowanych laboratoriów, których orzeczenia byłyby respektowane w krajach nabywających polskie rośliny.

#### 4. Hodowla nowych odmian

Współczesna hodowla odmian jest ukierunkowana przede wszystkim na tworzenie roślin przystosowanych do warunków siedliska i odpornych na choroby i szkodniki, co obniża koszty produkcji i chroni środowisko w wyniku zmniejszonego zużycia pestycydów. W przypadku roślin uprawianych w szklarniach istotne znaczenie ma także jak najszybsze osiągnięcie wartości handlowej i zdolność do wzrostu w jak najniższych temperaturach uprawy. Metody biotechnologiczne są z reguły stosowane w przypadku, gdy nie można uzyskać pożądanej zmienności metodami konwencjonalnymi. Takie sposoby, jak wprowadzanie mieszańców z krzyżowań oddalonych przez zapłodnienie oraz hodowlę zalażni i zarodków *in vitro* stosowane są w hodowli lilii i nerine (21), niecierpka (22), alstremerii (23) czy tulipanów (24). Uzyskiwanie haploidów z nie zapłodnionych zalażni lub mikrospor do badań genetycznych, mutacji i do produkcji linii homozygotycznych dla odmian heterozyjnych zostało opisane dla celów hodowli gerbery (25). Były też próby otrzymania mieszańców somatycznych w wyniku fuzji protoplastów odmian gatunków roślin ozdobnych należących do rodziny astrowatych (26) oraz pomiędzy gatunkami goździków (27). Kultury *in vitro* mogą być źródłem dla pozyskiwania spontanicznych mutantów somaklonalnych lub ich indukowania, co doprowadziło do uzyskania nowych genotypów i odmian takich roślin m. in. jak: anturium, begonia, chryzantema, eustoma, fikus, gerbera, goździk, pelargonium, storczyki, sępolia czy skrzętnik (28,29). Odmiany o dużej wartości gospodarczej mogą być wzbogacone pojedynczymi, korzystnymi cechami przez wprowadzanie ko-



dujących je genów w drodze transformacji (30). Atrakcyjne dla roślin ozdobnych mogą być geny: kodujące barwę (31), płaszczka białkowego wirusów (32), produkujące chitynazę, podnoszącą odporność przeciwko niektórym grzybom patogenicznym (33), odporności przeciwko toksynie bakteryjnej (34), produkujące toksynę przeciwko owadom (35), powodujące odporność na herbicydy, szczególnie mniej szkodliwe dla środowiska (36).

Prawo hodowcy do czerpania zysków z własnych odmian może być lepiej zabezpieczone przez konstruowanie odmian heterozyjnych, odtwarzanych z linii posiadających geny męskiej sterility (37). Wyizolowane obce geny można wprowadzać do roślin w drodze transformacji bezpośredniej lub za pośrednictwem *Agrobacterium*. Próby transformacji były podjęte w stosunku do lilii (38), tulipana (39), petunii, goździka szklarniowego, gerbery, róży, chryzantemy, lwiej paszczy, dendrobium, anturium, pelargonii i eustomy (40).

Prace hodowlane można przyspieszyć przez dokonywanie selekcji za pomocą markerów biochemicznych (np. obecności określonych fragmentów DNA lub innych związków chemicznych) oraz na eksplantatach w warunkach *in vitro*, co pozwala na szybsze zmniejszenie liczby pojedynków hodowlanych. Selekcja w warunkach *in vitro* genotypów odpornych na zasolenie podłoża była prowadzona w stosunku do lawendy i pokrzywy ozdobnej, na patogeny grzybowe w kulturach goździków i gerber, a na niższe temperatury uprawy w kulturach chryzantem, anturium, poinsecji i sępolii (41,42,29). Zarówno dla wprowadzania jak i selekcji można wykorzystywać wszystkie poznane i stosowane dla innych roślin metody biotechnologiczne. Wprowadzanie do produkcji odmian roślin ozdobnych, zmienionych przez obecność obcych genów, może nie napotykać na tak drastyczny sprzeciw społeczny jaki towarzyszy inżynierii genetycznej roślin będących składnikami pożywienia. To także podnosi atrakcyjność roślin ozdobnych jako obiektu badawczego.

## 5. Wnioski

1. Metody biotechnologiczne zastosowane w badaniach i produkcji kwiatarskiej mogą:

- a) rozszerzyć ofertę odmian i przyspieszyć wprowadzanie do uprawy nowych gatunków,
- b) ułatwić produkcję elity matecznej, wolnej od chorób i szkodników,
- c) obniżyć koszty produkcji materiału nasadzeniowego w wyniku zastosowania oszczędnych technologii masowego rozmnażania *in vitro*.

2. Rośliny ozdobne zmienione metodami biotechnologicznymi mogą budzić mniejszy sprzeciw społeczny jak rośliny będące składnikami pożywienia ludzi i zwierząt.



## Literatura

1. Takayama S., Swedlund B., Miwa Y., (1991), in: *Scale-Up and Automation in Plant Propagation*, Ed. Vasil I. K., Academic Press, Inc., San Diego, 112 - 132.
2. Ziv M., (1990), in: *Progress in Plant Cellular and Molecular Biology*, Eds. Nijkamp H. J. J., van der Plas L. H. W., van Aartrijk J., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 119 - 124.
3. Preil W., Florek P., Wix U., Beck A., (1988), *Acta Horticulturae*, 226, 99 - 106.
4. Bach A., (1992), *Acta Horticulturae*, 325, 429 - 440.
5. Marsolais A. A., Wilson D. P. M., Tsujita M. J., (1991), *Can. J. Bot.*, 69, 1188 - 1193.
6. Kiviharju E., Tuominen U., Tormala T., (1992), *Plant Cell Tissue, Organ Culture*, 28, 187 - 194.
7. Vasil I., (1991), in: *Scale-Up and Automation in Plant Propagation*, Ed. Vasil I., Academic Press, Inc., San Diego, 1 - 6.
8. Kurtz S. L., Hartman R. D., Chu I. Y. E. *ibid.*, 7 - 34.
9. Kozai T., *ibid.*, 213 - 230.
10. Martin R. R., (1985), *HortScience*, 20, 837 - 845
11. Mowat W. P., (1986), *Acta Horticulturae*, 177, 211 - 219.
12. Valverde R. A., Nameth S. T., Jordan R. L., (1990), *Plant Disease*, 74, 255 - 258.
13. Hicks R. G. T., Ngamyeesoon N., Perkins C. J., (1987), *Acta Horticulturae*, 226, 417 - 424.
14. Schonborn J., Oberstrass J., Breyel E., Tittgen J., Schumacher J., Lucacs N., (1991), *Nucleic Acid Research*, 19, 2993 - 3000.
15. Bouman H., de Klerk G. J., (1989), *Acta Horticulturae*, 266, 331 - 337.
16. Albouy J., Lemattre M., Wang W. C., Mevel A., (1992), *Acta Horticulturae*, 325, 781 - 786.
17. Munro D., Johnstone G. R., (1992), *Acta Horticulturae*, 325, 715 - 717.
18. Booy G., Venne T. H. M., van der Schoot J., (1992), *Acta Horticulturae*, 325, 883 - 886.
19. Tormala T., Honkanen J., Seppanen P., (1992), *Agro Food Industry Hi-Tech*, 2, 5 - 8.
20. Tzuri G., Hillel J., Lavi U., Haberfeld A., Vainstein A., (1991), *Plant Science*, 76, 91 - 97.
21. van Tuyl J. M., van Creij M. G. M., van Dien M. P., (1992), *Acta Horticulturae*, 325, 461 - 466.
22. Arisumi T., (1987), *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 112, 1026 - 1031.
23. Buitendijk J. H., Ramanno M. S., Jacobsen E., (1992), *Acta Horticulturae*, 325, 493 - 498.
24. van Creij M. G. M., Kerckhoffs D. M. F. J., van Tuyl J. M., (1992), *Acta Horticulturae*, 325, 619 - 624.
25. Meynet J., Sibi M., (1984), *Z. Pflanzenzuchtung*, 93, 78 - 85.
26. Malaure R. S., Al-Atabee J. S., Davey M. R., Power J. B., (1990), *Abstracts VII<sup>th</sup> International Congress on Plant Tissue and Cell Culture*, Amsterdam, (A8 - 43).
27. Nakano M., Mii M., (1990), *ibid.*, (A8 - 46).
28. Jerzy M., Zalewska M., Piszczek P., (1993), *Acta Horticulturae* (w druku).
29. Sabała I., Orlikowska T., 1994, *Prace Instytutu Sadownictwa i Kwaciarsstwa* (w druku).
30. Potrykus I., (1990), *Physiol. Plant.*, 79, 125 - 134.
31. Mol J. N. M., Stutje A. R., van der Krol A., (1989), *Plant Molecular Biology*, 13, 287 - 294.
32. Nejdat A., Clark W. G., Beachy R. N., (1990), *Physiol. Plant.*, 80, 662 - 668.
33. Samac D. A., Shah D. M., (1991), *The Plant Cell*, 3, 1063 - 1072.
34. de la Fuente-Martinez J. M., Mosqueda-Cano G., Alvarez-Morales A., Herrera-Estrella L., (1992), *Bio/Technology*, 10, 905 - 909.

35. Gelernter W. D., (1990), Proc. Brighton Crop Protection Conference, Brighton, 617 - 624.
36. Shyr Y. Y., Widholm J. M., (1990), in: *Progress in Plant Cellular and Molecular Biology*, Eds.: Nijkamp H. J. J., van der Plas N. K. W., van Aartrijk J., 148 - 152.
37. Mariani C., de Beuckeleer M., Truettner J., Leemans J., Goldberg R. B., (1990), *Nature*, 347, 737 - 741.
38. Cohen A., Meredith C. P., (1992), *Acta Horticulturae*, 325, 611 - 618.
39. Wilmink A., van de Ven B. C. E., Dons J. J. M., (1992), *Plant Cell Reports*, 11, 76 - 80.
40. Robinson K. E. P., Firoozabady E., (1993), *Scientia Horticulturae*, 55, 83 - 99.
41. Arai M., Takeuchi M., (1993), *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 34, 287 - 293.
42. Preil W., Huitema J. B. M., de Jong J., (1991), *Plant Breeding*, 107, 131 - 134.

### Biotechnological methods in floriculture research and industry

#### Summary

Biotechnological methods which could be employed in research and commercial production of ornamental plants are reviewed.

#### Key words:

biotechnological methods, ornamental plants, breeding, elita production, micropropagation.

#### *Adres dla korespondencji:*

Teresa Orlikowska, Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa, ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice.